

# **Genética populacional do ariocó *Lutjanus synagris* (Linnaeus, 1758) na costa brasileira**

**Lougan Lagass Pereira**

**Dissertação de mestrado em Biodiversidade Tropical**

**Mestrado em Biodiversidade Tropical**

**Universidade Federal do Espírito Santo  
São Mateus, 2016**

“Se cheguei até aqui foi porque *me apoiei no ombro dos gigantes.*”

Isaac Newton

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a DEUS, pela sabedoria, saúde e todas as bênçãos.

Aos meus pais, Luci Lagass Pereira e Valdecir Pereira pelo apoio e amor incondicional.

À minha namorada Nayara Texeira Barbosa de Matos, pelo amor e companheirismo em 1 ano de namoro.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Ana Paula Cazerta Farro pelo apoio, amizade e ensinamentos em quase seis anos de trabalho em conjunto.

Ao Dr. Leonardo Francisco Machado, pelos ensinamentos, amostras e apoio financeiro.

À Msc. Drienne Messa Faria por todo suporte laboratorial.

À CAPES pela bolsa de mestrado.

À Luana Nara pelas ajudas.

## Sumário

Agradecimentos .....	III
Sumário .....	IV
Lista de tabelas .....	V
Lista de figuras .....	VI
Resumo .....	7
Abstract .....	8
Material e Métodos .....	13
Amostragem .....	13
Amplificação e sequenciamento do DNA .....	14
Alinhamento das sequências .....	15
Análises de diversidade e estruturação .....	15
Resultados .....	15
Discussão .....	18
Análise populacional .....	18
Conclusões .....	21
Referências Bibliográficas .....	22
Anexo .....	26
Anexo I - Protocolo de extração de DNA utilizando solução salina (Bruford et al. 1992) .....	26

## **Lista de tabelas**

<b>Tabela 1: Diversidade genética, teste de neutralidade e N amostral observado para a região controle do DNA de <i>Lutjanus synagris</i>, em diferentes unidades amostrais.....</b>	<b>16</b>
<b>Tabela 2: FSTs das Unidades amostrais estudadas. ....</b>	<b>16</b>

## Lista de figuras

Figura 1: <i>Lutjanus synagris</i> (Ariocó) .....	9
Figura 2: Distribuição geográfica de <i>Lutjanus synagris</i> (tracejado escuro) e localização das unidades amostrais Maranhão (MA), Paraíba (PB), Banco dos Abrolhos (BA), Sul do Espírito Santo (ES), São Paulo (SP).....	14
Figura 3:Distribuição Mismatch das amostras de <i>Lutjanus synagris</i> para as unidades amostrais: Maranhão, Paraíba, Banco de Abrolhos, Sul do Espírito Santo e São Paulo. ....	17
Figura 4: Rede haplotípica com as unidades amostrais de Ariocó no litoral brasileiro. O tamanho dos círculos é proporcional a frequência dos haplótipos representados, os pontos vermelhos são possíveis haplótipos existentes que não foram amostrados. Maranhão (MA).....	18

## Resumo

Ariocó (*Lutjanus synagris*) é uma espécie de peixe de recife da família Lutjanidae, que ocorre desde a costa leste dos EUA na Carolina do Norte até o sul do Brasil. Embora apresente alta importância ecológica e econômica, poucos estudos sobre questões genéticas da população desta espécie foram desenvolvidos. Este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética e conectividade populacional de *L. synagris* considerando cinco diferentes localidades do litoral brasileiro. Amostras de nadadeira caudal de 94 indivíduos obtidos em peixarias foram utilizadas, sendo esses: 19 do Maranhão (MA); 32 da Paraíba (PB); 37 do Banco dos Abrolhos (BA); quatro do Sul do Espírito Santo (ES); duas em São Paulo (SP). A espécie dos indivíduos foi confirmada por especialistas, seguindo a chave de identificação da FAO (Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação). Os fragmentos de cerca de 840bp da região de controle do DNA mitocondrial (D-Loop) foram amplificados e sequenciados. Foram identificados trinta e oito haplótipos, e o mais frequente (haplótipo 29) foi compartilhado por 43 indivíduos provenientes das cinco unidades amostrais. A diversidade haplotípica foi alta, sendo mais elevada para SP ( $H = 1,00 \pm 0,50$ ), e a mais baixa para BA ( $H = 0,74 \pm 0,08$ ). A diversidade nucleotídica foi baixa, sendo o mais alto para o PB ( $\pi = 0,0025 \pm 0,0016$ ), e a menor para BA ( $\pi = 0,0015 \pm 0,0010$ ). Os resultados da AMOVA ( $F_{ST} = -0,01$ , P-valor =  $0,68 \pm 0,016$ ) indicou uma única população com intenso fluxo gênico. A rede de haplótipos mostrou um haplótipo central, compartilhado por todas as unidades de amostragem. Testes de neutralidade (Fu e Tajima D) geraram valores negativos e significativos para todas as unidades amostrais, com exceção de SP. Os resultados obtidos sugerem que a população experimentou pelo menos dois eventos do tipo gargalo, com subsequente expansão demográfica. Para o marcador avaliado, os dados sugerem um único estoque genético, informação que deverá ser considerada caso um futuro plano de manejo da espécie seja formulado.

Palavras chave: Diversidade genética, D-loop, peixes recifais.

## Abstract

Ariocó (*Lutjanus synagris*) is a reef fish species of the Lutjanidae family that occurs from the USA East Coast in North Carolina to southern Brazil. Although this species presents high ecological and economic importance few studies about population genetic questions were developed. This study aimed to evaluate the genetic diversity and connectivity among individuals of the species *L. synagris* considering five different locations of Brazilian coast. Caudal fin samples of 94 individuals were obtained from fishmongers, this being 19 from Maranhao (MA), 32 from Paraiba (PB), 37 from Abrolhos Bank (AB), four from southern Espirito Santo (ES) and two from Sao Paulo (SP). The specie of Individuals was confirmed by experts, following the FAO (United Nations Food and Agriculture Organization) identification key. Fragments around 840bp of the control region of mitochondrial DNA (D-loop) were amplified and sequenced. Thirty-eight haplotypes were identified. The most frequent (haplotype 29) was shared by 43 individuals from the five sample units. The haplotype diversity was high, being the highest for SP ( $h = 1.00 \pm 0.50$ ), and the lowest for BA ( $h = 0.74 \pm 0.08$ ). The nucleotide diversity was low, being the highest for PB ( $\pi = 0.0025 \pm 0.0016$ ), and the lowest for BA ( $\pi = 0.0015 \pm 0.0010$ ). The results of AMOVA ( $F_{st} = -0.01$ ,  $P\text{-value} = 0.68 \pm 0.016$ ) indicated a single population with intense gene flow. The haplotype network showed a central haplotype shared by all sampling units. Tests of Neutrality (Fu and Tajima D) showed negative and significant values for all sampled units, except for SP. With these data it is possible suggest that the population has experienced at last two bottleneck events, with subsequent expansion. For the evaluated marker, the data suggest a single genetic stock, information that should be considered if a future species management plan is formulated.

Keywords: D-loop, genetic diversity, reef fish.



## INTRODUÇÃO

O ariocó (*Lutjanus synagris*) (figura 1) é um lutjanídeo que se distribui desde a costa leste dos EUA na Carolina do Norte até a costa sudeste do Brasil, incluindo o Golfo do México e o mar do Caribe (Allen 1985). A espécie é comum em uma variedade de habitats, desde recifes de corais até fundos lamosos de estuários e é uma das espécies economicamente mais importantes em todo o Caribe e também no nordeste brasileiro (Luckhurst et al. 2000; Fredou et al. 2006; Begossi et al. 2012). A exploração comercial dos Lutjanídeos na costa ocidental do Pacífico teve início em 1800 (Polovina e Ralston 1987). No Brasil, espécies demersais da família Lutjanidae vêm sendo exploradas comercialmente na costa norte/nordeste desde a introdução das linhas pargueiras pelos portugueses, entre as décadas de 50 e 60 (Resende et al. 2003), sendo que atualmente contribuem significativamente nos desembarques controlados de toda costa norte e nordeste, se estendendo até o sul da Bahia (IBAMA 2001).



Figura 1: *Lutjanus synagris* (Ariocó)

Os Lutjanídeos possuem uma longevidade alta (20 a 30 anos) e um crescimento lento ( $K < 1,5$ ), o que os torna altamente vulneráveis a sobrepesca (Resende et al. 2003). *Lutjanus synagris* forma grupos reprodutivos, o que

facilita sua captura, devido a grande concentração de indivíduos em um único local (Smithsonian Marine Station 2016).

A identificação de estoques pesqueiros e a capacidade de diferenciá-los constituem elementos essenciais para o manejo de pescarias (Waldman 1999). Sendo a definição de estoque frequentemente contextual, o termo geralmente se refere a populações autossustentáveis e demograficamente independentes (Dizon et al. 1992; Moritz 1994; Begg e Waldman 1999).

Técnicas moleculares são comumente utilizadas para estudar a estruturação destas populações (estoques) e têm sido empregadas em uma ampla gama de organismos marinhos (Ovenden et al. 2004; Dethmers et al. 2006; Ward 2006; Ovenden et al. 2009). Dentre os marcadores moleculares, destacam-se os marcadores moleculares provenientes de material genético organelar. As mitocôndrias possuem genoma próprio e replicação independente, mas sintetizam somente parte das proteínas e RNAs necessários à função da organela, enquanto a outra parte é sintetizada por genes do núcleo (Brown et al. 1979).

Diferente do DNA nuclear, o mitocondrial não sofre recombinação e é de linhagem apenas matriarcal. Esse material genético possui taxa de mutação de cinco a 10 vezes maior ( $5,7 \times 10^{-8}$  substituição/sítio/ano) do que os genes codificadores de proteínas do DNA nuclear (Brown 1980).

Os marcadores moleculares mitocondriais vem sendo amplamente utilizado em trabalhos de variabilidade genética, identificação de espécies, barcode, filogenia, entre outros (Chow et al. 1993; Batista 2006; Gomes et al. 2008). Dentre os mais utilizados para análises de peixes estão a região controle, D-loop (Gomes et al. 2008) e a citocromo oxidase I, COI (Ivanova et al. 2007).

Em relação à diversidade genética de *Lutjanus synagris*, Karlsson et al. (2009) estudaram oito regiões do Golfo do México e uma da costa atlântica da Florida, para o gene mitocondrial ND-4 e 14 microssatélites. Os pesquisadores encontraram duas populações distintas, não apresentando um isolamento pela distância entre as localidades. Foram analisados 138 indivíduos e foram identificados 30 haplótipos para o marcador mitocondrial. A diversidade haplotípica variou de 0,1 a 0,9 e a nucleotídica de 0,0005 a 0,005, sendo relatado que a diversidade flutuou ao longo do tempo.

Em um estudo desenvolvido no Caribe colombiano, (Landínez-García et al. 2009), apontaram que *L. synagris*, apresenta uma alta vulnerabilidade a sobrepesca, devido a características biológicas e degradação dos habitats, e que novos estudos são necessários para decisões políticas a respeito do manejo pesqueiro. Neste estudo foram analisadas 240 amostras para três regiões do Caribe colombiano, sendo encontrada uma estruturação em duas populações, com baixa diferença genética. A análise revelou que a distância não influenciou na diferenciação.

O trabalho realizado por Gold et al. (2011), com amostras de *L. synagris* da Florida Keys e quatro localidades do Caribe dos Estados Unidos, apresentou uma rede haplotípica na qual as amostras foram divididas em duas populações. As análises indicaram que tais populações sofreram um declínio relativamente recente em seu tamanho populacional e que a preocupação com um manejo adequado para a espécie é justificada.

Atualmente, os estoques pesqueiros de todo o mundo estão em declínio, devido a sobrepesca, poluição e degradação dos ecossistemas aquáticos, tornando evidente a necessidade de uma intervenção da comunidade científica em conjunto com órgãos governamentais no sentido de promover a preservação e maximização do potencial destes recursos (Walters e Martell 2004; Rodrigues e Mendes 2005). Moyle e Leidy (1992) destacaram que a perda de biodiversidade marinha está entre os maiores problemas enfrentados por países ao redor do mundo. Apesar disso, segundo Amaral e Jablonski (2005) os estudos realizados atualmente não atendem a demanda de informações para a elaboração de planos de conservação e uso sustentável da biodiversidade marinha, principalmente no Brasil. O manejo pesqueiro é algo de grande importância nas situações de declínio populacional, principalmente quando se trata de espécies ameaçadas de extinção. Uma medida governamental bastante conhecida é o "defeso", que é uma ação que visa proibir a captura de determinado recurso pesqueiro durante períodos de reprodução. Características genéticas também podem ser utilizadas para um manejo eficiente, pois o conhecimento da estrutura genética de uma espécie permite identificarmos diferenças genéticas geradas pelos processos vicariantes e suas relações com as diferenças adaptativas (Avice 1994).

Um problema sério para a gestão das populações de recursos pesqueiros é a redução dos recursos genéticos (Çiftci e Okumuş 2002). Tal fato torna a pesquisa em genética molecular fortemente sustentada e vital para a gestão dos recursos pesqueiros, pois a redução da diversidade genética, pode a longo prazo levar a extinção da população (Park e Moran 1994; Çiftci e Okumuş 2002).

Assim, o presente trabalho pretende avaliar a estruturação genética populacional de *Lutjanus synagris* na costa brasileira, bem como a diversidade genética inter e intra populacional, visando contribuir para a elaboração de futuros planos de manejo e conservação deste importante recurso pesqueiro.

## Material e Métodos

### Amostragem

Foram coletadas amostras de nadadeira caudal de 94 indivíduos da espécie *Lutjanus synagris*. Estes indivíduos foram obtidos em peixarias, sendo: 19 no Maranhão (MA); 32 na Paraíba (PB); 37 no Banco dos Abrolhos (BA) (que inclui amostras da Bahia e do Espírito Santo); quatro no sul do Espírito Santo (ES); e duas em São Paulo (SP) (Figura 2). Os indivíduos foram identificados por especialistas, seguindo o guia de identificação da Família Lutjanidae elaborado pela FAO (*United Nations Food and Agriculture Organization*).

Pedaços de nadadeira caudal foram cortados com o auxílio de bisturi ou tesouro, os pedaços foram coletados de peixes frescos, tomando os devidos cuidados para não contaminar uma amostra com material biológico de outra amostra/peixe. Após retirada dos tecidos estes foram armazenados em álcool 70%, dentro de microtubos, as amostras foram acondicionadas a -20 °C, no Laboratório de Genética e Conservação Animal da Universidade Federal do Espírito Santo, no Campus de São Mateus (CEUNES), onde posteriormente foram submetidas aos procedimentos de extração e amplificação do DNA.

Para a localidade de São Paulo foram utilizadas apenas duas amostras que já se encontravam no laboratório, com o intuito de aumentar o espaço geográfico estudado. Já para o Sul do Espírito Santo foram utilizadas quatro amostras.

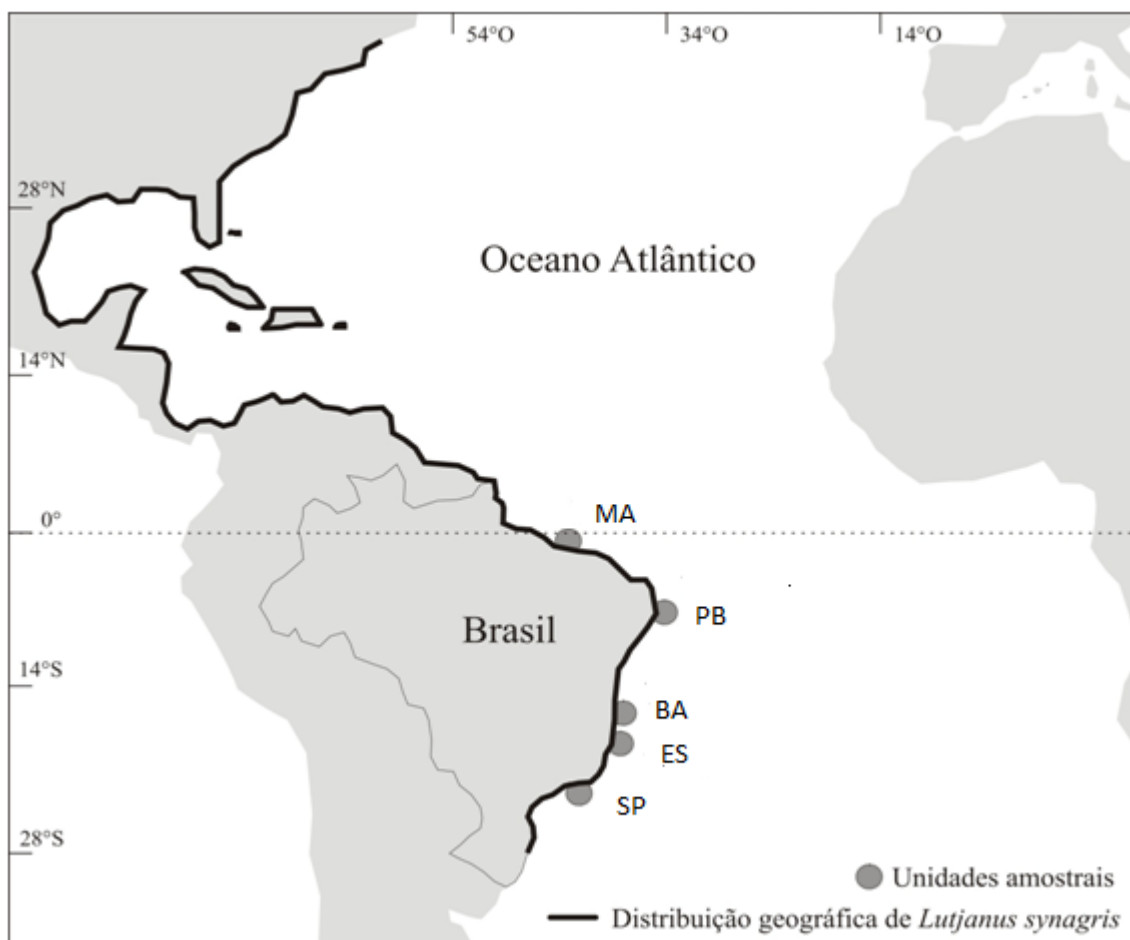


Figura 2: Distribuição geográfica de *Lutjanus synagris* (tracejado escuro) e localização das unidades amostrais Maranhão (MA), Paraíba (PB), Banco dos Abrolhos (BA), Sul do Espírito Santo (ES), São Paulo (SP).

### Extração do DNA

As extrações de DNA foram realizadas utilizando-se o protocolo de extração salina, conforme anexo 1 (Bruford et al. 1992). As quantificações do DNA foram realizadas a partir de um espectrofotômetro Nanodrop 2000 (Uniscience) utilizando-se 1 µl.

### Amplificação e sequenciamento do DNA

A região do DNA mitocondrial D-loop foi sequenciada utilizando os primers F-A1 (Lee et al. 1995) e Perc12S1 (Santa Brígida et al. 2007). As reações foram conduzidas com um volume final de 12,5 µl com 10 ng de DNA, tampão de PCR 10× (PhT), 1,6 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM de cada primer, 0,24 mM de dNTP e 0,5 u de Taq DNA polimerase (PhT). O perfil das PCRs consistiu de 95°C por 5 min, 35 ciclos de

95°C por 1min, 48,5°C por 1min e 68°C por 1 min e extensão final de 65°C por 5 minutos.

Os fragmentos amplificados foram visualizados em gel de agarose (1%) corado com Gelred e então foto-documentados. O produto total das PCRs (12,5 µl) foi purificado adicionando-se a enzima Exonuclease I (10u/µl) e *Shrimp alkaline phosphatase* (1u/µl), Exo/Sap (1/1) e incubando-se a 37°C por 15 min e 80°C por 15 minutos. Em seguida, as amostras foram enviadas para a empresa MacroGen Inc. que realizou o sequenciamento (Forward e Reverse) das amostras em um sequenciador automático ABI 3730xl.

#### Alinhamento das sequências

As sequências foram alinhadas com o algoritmo MUSCLE (Robert 2004) por meio do programa MEGA v.6 (Kumar et al. 1994; Tamura et al. 2013), no qual estas também foram manualmente editadas, tendo como base a análise das duas sequências e do eletroferograma. Além disso, as sequências foram editadas para que todas as sequências apresentassem o mesmo tamanho para que pudessem ser analisadas.

#### Análises de diversidade e estruturação

O programa Arlequin v.3.5 (Excoffier et al. 2005) foi utilizado para calcular os componentes de variância, as diversidades haplotípica (H) e nucleotídica ( $\pi$ ) e a Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre as diferentes localidades, baseando-se no  $F_{ST}$  com 1000 permutações (Nei 1987).

O programa Network (Bandelt et al. 1999) foi utilizado para construir a rede haplotípica, com cálculos de *Median-Joining*, e a árvore foi editada no Microsoft Paint (Microsoft Corporation).

## Resultados

Foram obtidas sequências variando de 900 a 1500 pares de base, sendo que tais sequências foram editadas e padronizadas para 840 pares de base.

Das 94 sequências obtidas, foram detectados 38 haplótipos para a região D-loop, sendo 30 destes haplótipos únicos.

A população estudada apresentou alta diversidade haplotípica ( $h = 1 - 0,74$ ) e baixa diversidade nucleotídica ( $\pi = 0,0015 - 0,0025$ ) (Tabela 1).

O haplótipo mais frequente ( $n=43$ ) foi compartilhado por todas as unidades amostrais.

Os testes de neutralidade, Tajima e Fu, apresentaram valores negativos e significativos (Tabela 1).

Tabela 1: Diversidade genética, teste de neutralidade e N amostral observado para a região controle do DNA de *Lutjanus synagris*, em diferentes unidades amostrais.

	N	n	Sp	$\pi$	H	T	F
MA	19	10	15	0.0024 +/- 0.0016	0.7836 +/-0.0976	-1.93524	-4.66135
PB	32	15	25	0.0025 +/- 0.0016	0.8327+/-0.0639	-2.31050	-9.08757
BA	37	18	18	0.0015 +/- 0.0010	0.7417 +/- 0.0803	-2.26780	-19.49497
ES	4	4	4	0.0023 +/- 0.0020	1.0000+/- 0.1768	-0.78012	-1.87180
SP	2	2	2	0.0023 +/- 0.0029	1.0000 +/- 0.5000	0.00000	0.69315

Legenda: Número de amostras (N), Número de haplótipos (n), Sítios polimórficos (Sp), Diversidade nucleotídica ( $\pi$ ), Diversidade haplotípica (H), Tajima's D (T), Fu(Fs) (F). Unidades amostrais: Maranhão (MA), Paraíba (PB), Banco de Abrolhos (BA), Sul do Espírito Santo (ES), São Paulo (SP).

Os valores de FST calculado entre cada uma das unidades amostrais, apresentam valores negativos ou próximos de zero (Tabela 2).

A AMOVA revelou que o percentual de variação entre as unidades amostrais é de -1.02 e dentro das unidades amostrais é de 101.02, o FST foi de - 0.01 com P-valor = 0.68.

Tabela 2: FSTs das Unidades amostrais estudadas.

	MA	PB	BA	ES	SP
MA		0,72754+/-0,0162	0,71582+/-0.0170	0,31836+/-0,0135	0,92480+/-0,0066
PB	-0,01159		0,27441+/-0,0142	0,73535+/-0,0137	0,74219+/-0,0105
BA	-0,01100	0,00127		0,36816+/-0,0168	0,95020+/-0,0079
ES	0,01468	-0,03708	0,02154		0,99902+/-0,0002
SP	-0,10833	-0,10411	-0,09491	-0,14286	

Legenda: Abaixo da diagonal os valores P, e Acima da diagonal os valores de FST. Valores significativos ao nível de 0,05. Unidades amostrais: Maranhão (MA), Paraíba (PB), Banco de Abrolhos (BA), Sul do Espírito Santo (ES), São Paulo (SP).



A distribuição *mismatch* apresentou uma curva bimodal (Figura 3).

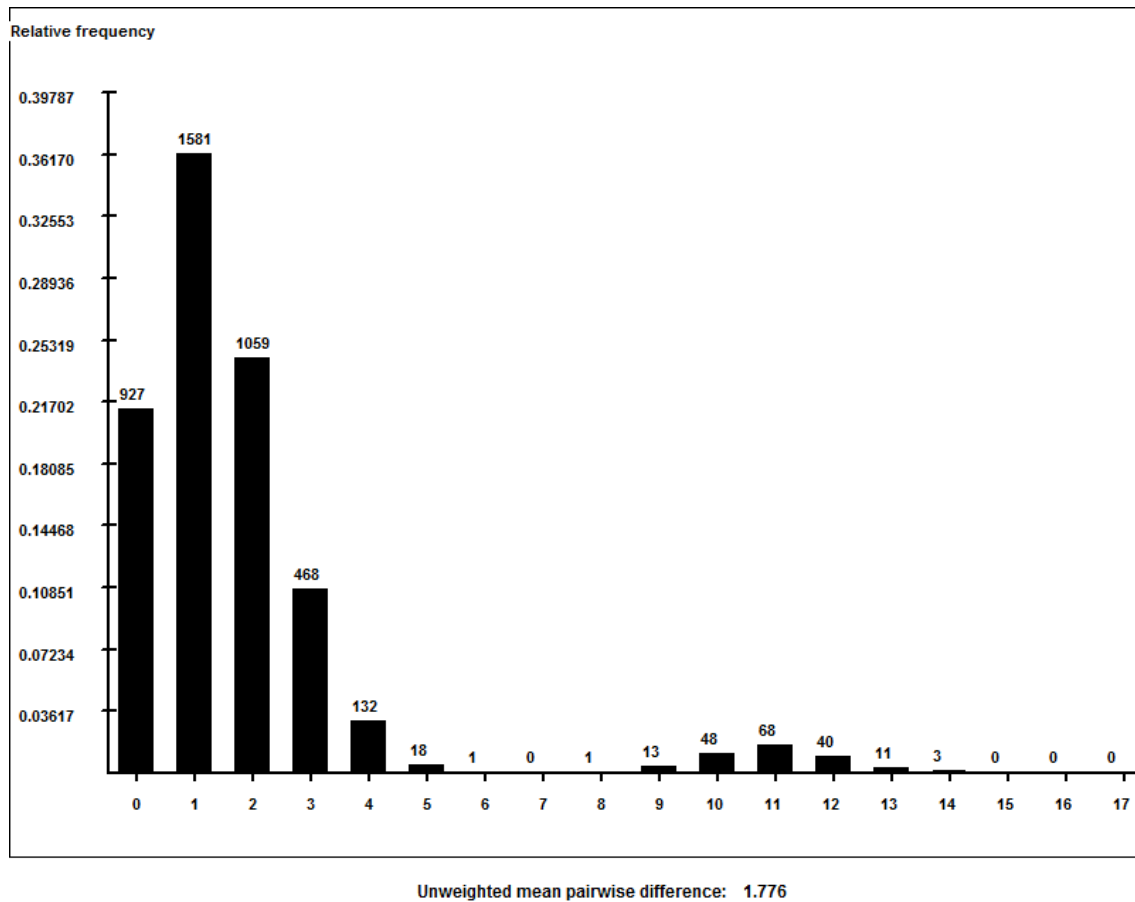


Figura 3: Distribuição Mismatch das amostras de *Lutjanus synagris* para as unidades amostrais: Maranhão, Paraíba, Banco de Abrolhos, Sul do Espírito Santo e São Paulo.

A rede de haplótipos apresentou um haplótipo central e os demais haplótipos partindo desse, característico de uma rede haplotípica em estrela (Figura 4).

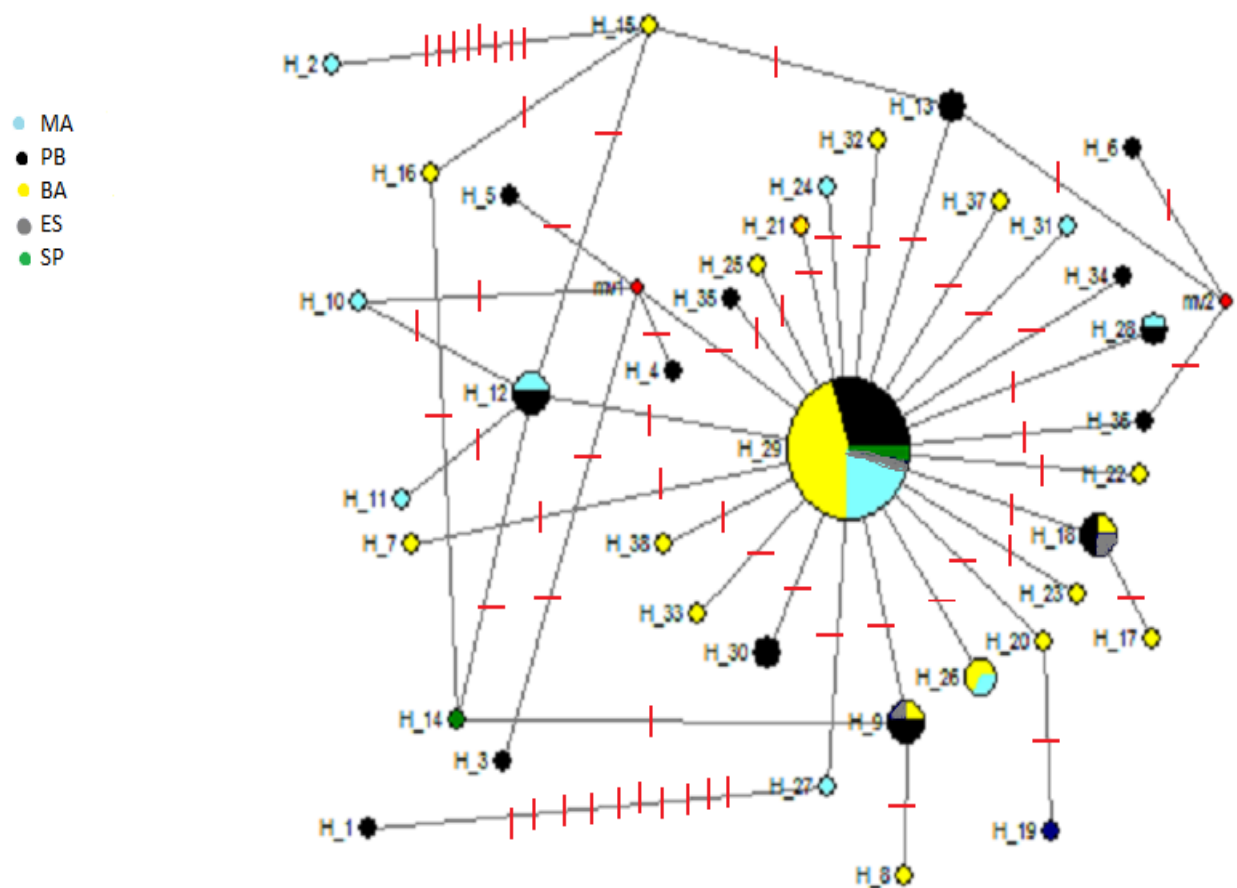


Figura 4: Rede haplotípica com as unidades amostrais de Ariocó no litoral brasileiro. O tamanho dos círculos é proporcional a frequência dos haplótipos representados, os pontos vermelhos são possíveis haplótipos existentes que não foram amostrados. Maranhão (MA).

## Discussão

### Análise populacional

O padrão de alta diversidade genética, caracterizada pela grande quantidade de haplótipos encontrados em relação ao número amostral; e baixa diversidade nucleotídica, caracterizada pela baixa diferenciação (poucas mutações) entre os haplótipos, sugere uma população que experimentou uma redução no seu tamanho efetivo (gargalo de garrafa ou efeito fundador), seguida de expansão recente (Grant e Bowen 1998).

Apesar da pequena quantidade de amostras utilizadas de São Paulo, um dado interessante foi obtido dos dois haplótipos encontrados: uma amostra se encaixou dentro do haplótipo principal encontrado pelo trabalho, o que reforça

que esse haplótipo seja muito frequente e abundante na natureza, resultado semelhante foi encontrado para ES.

Os testes de Neutralidade de Tajima e Fu com resultados negativos significativos, corroboram a hipótese da expansão populacional recente (Tajima 1989; Aris-brosou e Excoffier 1996).

A rede de haplótipos (Figura 4) não mostrou qualquer padrão de estruturação populacional, sendo que cinco haplótipos são compartilhados por duas ou três unidades amostrais, e o haplótipo central, compartilhado por todas as unidades amostrais. Os demais haplótipos em sua maioria são únicos e estão em torno do haplótipo central. Com exceção do H2 com nove passos mutacionais, e o H1 com 11 passos mutacionais de distância do haplótipo central, os demais haplótipos, se encontram a no máximo, três passos mutacionais do haplótipo central, demonstrando a pequena distância genética desse haplótipos. Além disso, o formato estrela e a ampla distribuição do haplótipo principal também são indícios de expansão populacional (Rodrigues et al. 2008).

As análises de FST demonstraram que as unidades amostrais tem frequências alélicas bem similares, demonstrando uma falta de estruturação genética (Mcmanus et al. 2011).

A AMOVA demonstrou que a variação é maior dentro das unidades amostrais do que entre elas, sendo assim, podemos considerar uma única população.

Com o compartilhamento de haplótipos e a ausência de estruturação, podemos dizer que essas unidades amostrais constituem uma única população, assim, na realização de um plano de manejo da espécie, é preciso pensar em todas essas áreas como uma só.

O padrão de não estruturação genética já foi registrado para outros lutjanídeos, como: *Lutjanus jocu* e *Lutjanus analis* (Dias Júnior 2012), *L. purpureus* (Salles et al. 2006; Gomes et al. 2008) e *Ocyurus chrysurus* (Vasconcellos et al. 2008).

A falta de estruturação pode ser explicada pela falta de barreiras eficientes dentro da distribuição de *L. synagris*. Além disso, a ação da corrente do Brasil no sentido sul (Lumpkin e Garzoli 2005) aliada as características

biológicas da espécie, como formação de agregados reprodutivos (Smithsonian Marine Station 2016), podem servir para aumentar a dispersão larval e o fluxo gênico. A corrente no sentido sul cobre grande parte da área de distribuição da espécie no Brasil, na qual as larvas planctônicas são dispersas de forma passiva pelas correntes marinhas (Karlsson et al. 2009; Dias Júnior 2012). Nesse aspecto, a dispersão larval parece ser o principal fator de dispersão, já que os adultos costumam ser sedentários, geralmente não se deslocando grandes distâncias (Bortone e Williams 1986). Assim, a principal fonte de homogenização dos haplótipos pode ser devido a grande capacidade de dispersão das larvas e da corrente do Brasil no sentido sul.

A distribuição mismatch (figura 3) com uma curva bimodal suave pode ser explicada pela presença de haplótipos não amostrados, extinção de haplótipos intermediários ou haplótipos de outras populações. Uma curva bimodal pode ser o reflexo de uma população que passou por diversos efeitos gargalos com a redução drástica da sua variação genética (Grant e Bowen 1998; Frankham et al. 2004). Assim podemos sugerir que a população em estudo experimentou pelo menos dois efeitos gargalos durante a sua história, sendo que passou por uma expansão populacional recente.

Ciclos sucessivos de retração e elevação do mar, datados do pleistoceno, parecem ter atuado de forma generalizada sobre espécies recifais, incluindo lutjanídeos, podendo ser a causa dos efeitos gargalos (Zhang et al. 2006; Gaither et al. 2010; Dias Júnior 2012).

## **Conclusões**

A partir deste estudo pode-se concluir que os indivíduos de *Lutjanus synagris* do Brasil apresentam alta diversidade haplotípica e que constituem uma mesma unidade populacional.

A população de *Lutjanus synagris* passou por processos de efeito gargalo e uma recente expansão populacional.

Futuras ações de manejo possivelmente deverão considerar as áreas como uma só, por se tratar de um único estoque genético.

## Referências Bibliográficas

- Allen G (1985) Fao Species Catalogue Vol . 6 . Snappers of the World. FAO Fish synopsis 6:208.
- Amaral ACZ, Jablonski S (2005) Conservação da biodiversidade marinha e costeira no Brasil. Megadiversidade 1:43–51. doi: 10.4257/oeco.2008.1202.06
- Aris-brosou S, Excoffier L (1996) The Impact of Population Expansion and Mutation Rate Heterogeneity on DNA Sequence Polymorphism. Mol Biol Evol 13:494–504.
- Avise J c. (1994) Molecular markers, natural history e evolution. Chapman e Hall, Inc., New York
- Bandelt HJ, Forster P, Rohl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biotechnol 37–48.
- Batista JDS (2006) Estimativa da variabilidade genética intra-específica da dourada - *Brachyplatystoma rousseauxii* Castelnau 1855 (Pimelodidae - Siluriformes) no sistema Estuário-Amazonas-Solimões. Biota Neotrop 6:0–0. doi: 10.1590/S1676-06032006000100019
- Begg GA, Waldman JR (1999) An holistic approach to fish stock identification. Fish Res 43:35–44. doi: DOI: 10.1016/S0165-7836(99)00065-X
- Begossi A, Salyvonchik S, Nora V, et al (2012) The Paraty artisanal fishery (southeastern Brazilian coast): ethnoecology and management of a social-ecological system (SES). J Ethnobiol Ethnomed 8:22. doi: 10.1186/1746-4269-8-22
- Bortone S., Williams J. (1986) Species Profiles : Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes Fish and Wildlife Service. US Fish Wildl Serv Biol Rep 82:1–28.
- Brown WM (1980) Polymorphism in mitochondrial DNA of humans as revealed by restriction endonuclease analysis. Proc Natl Acad Sci U S A 77:3605–3609. doi: 10.1073/pnas.77.6.3605
- Brown WM, George M, Wilson AC (1979) Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. 76:1967–1971. doi: 10.1073/pnas.76.4.1967
- Bruford MW, Hanotte O, Brookfield JFY, Burke T (1992) Single-Locus and DNA fingerprinting. In: Hoelzel AR (ed) Molecular genetic analyses of populations. A Pratical Approach. IRL Press, Oxford, pp 225–269
- Chow S, Clarke M, Walsh P (1993) PCR-RFLP analysis on thirteen western Atlantic snappers(subfamily Lutjaninae): A simple method for species and stock identification. Fish Bull 91:619–627.
- Çiftci Y, Okumuş İ (2002) Fish population genetics and applications of molecular markers to fisheries and aquaculture: I-basic principles of fish population genetics. Turkish J Fish Aquat Sci 2:145–155.
- Dethmers KEM, Broderick D, Moritz C, et al (2006) The genetic structure of

- Australasian green turtles (*Chelonia mydas*): exploring the geographical scale of genetic exchange. *Mol Ecol* 15:3931–3946. doi: 10.1111/j.1365-294X.2006.03070.x
- Dias Júnior EA (2012) Estrutura genética populacional de *Lutjanus analis* - cioba e *Lutjanus jocu* - dentão (Lutjanidae) ao longo do litoral brasileiro. Rede Nordeste de Biotecnologia
- Dizon AE, Lockyer C, Perrin WF, et al (1992) Rethinking the Stock Concept: A Phylogeographic Approach. *Conserv Biol* 6:24–36. doi: 10.1016/0006-3207(93)90670-V
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe D a (2004) A Primer of Conservation Genetics. Cambridge University Press, New York
- Fredou T, Ffrreira B, Letourneur Y (2006) A univariate and multivariate study of reef fisheries off northeastern Brazil. *ICES J Mar Sci* 63:883–896. doi: 10.1016/j.icesjms.2005.11.019
- Gaither MR, Bowen BW, Toonen RJ, et al (2010) Genetic consequences of introducing allopatric lineages of Bluestriped Snapper (*Lutjanus kasmira*) to Hawaii. *Mol Ecol* 19:1107–21. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04535.x
- Gold JR, Saillant E, Cummings NJ, Renshaw M a. (2011) Genetic Divergence and Effective Size among Lane Snapper in U.S. Waters of the Western Atlantic Ocean. *North Am J Fish Manag* 31:209–223. doi: 10.1080/02755947.2011.568864
- Gomes G, Schneider H, Vallinoto M, et al (2008) Can *Lutjanus purpureus* (South red snapper) be “legally” considered a red snapper (*Lutjanus campechanus*)? *Genet Mol Biol* 31:372–376. doi: 10.1590/S1415-47572008000200035
- Grant WS, Bowen BW (1998) Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: Insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered* 89:415–426. doi: 10.1093/jhered/89.5.415
- IBAMA (2001) Boletim estatístico da pesca marítima e estuarina do Nordeste do Brasil. Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros do Litoral Nordeste, Tamandaré
- Ivanova N V., Zemlak TS, Hanner RH, Hebert PDN (2007) Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Mol Ecol Notes* 7:544–548. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x
- Karlsson S, Saillant E, Gold JR (2009) Population structure and genetic variation of lane snapper (*Lutjanus synagris*) in the northern Gulf of Mexico. *Mar Biol* 156:1841–1855. doi: 10.1007/s00227-009-1217-y
- Kumar S, Tamura K, Nei M (1994) MEGA: molecular evolutionary genetics analysis software for microcomputers. *Comput Appl Biosci* 189–191.
- Landínez-García RM, Ospina-Guerrero SP, Rodríguez-Castro DJ, et al (2009) Genetic analysis of *Lutjanus synagris* populations in the Colombian Caribbean. *Ciencias Mar* 35:321–331.

- Lee WJ, Conroy J, Howell WH, Kocher TD (1995) Structure and evolution of teleost mitochondrial control regions. *J Mol Evol* 41:54–66. doi: 10.1007/BF00174041
- Luckhurst BE, Dean JM, Reichert M (2000) Age, growth and reproduction of the lane snapper *Lutjanus synagris* (pisces: Lutjanidae) at Bermuda. *Mar Ecol Prog Ser* 203:255–261. doi: 10.3354/meps203255
- Lumpkin R, Garzoli SL (2005) Near-surface circulation in the Tropical Atlantic Ocean. *Deep Res Part I Oceanogr Res Pap* 52:495–518. doi: 10.1016/j.dsr.2004.09.001
- Mcmanus C, Paiva S, Corrêa PS (2011) Estatísticas para descrever Genética de Populações. 1–50.
- Microsoft Corporation Introdução ao Paint. <http://windows.microsoft.com/pt-PT/windows7/Getting-started-with-Paint>. Accessed 3 Feb 2016
- Moritz C (1994) Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Mol Ecol* 3:401–411. doi: 10.1111/j.1365-294X.1994.tb00080.x
- Moyle PB, Leidy RA (1992) Loss of Biodiversity in Aquatic Ecosystems: Evidence from Fish Faunas. In: *Conservation Biology*. Springer US, Boston, MA, pp 127–169
- Nei M (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia University Press, New York
- Ovenden JR, Kashiwagi T, Broderick D, et al (2009) The extent of population genetic subdivision differs among four co-distributed shark species in the Indo-Australian archipelago. *BMC Evol Biol* 9:40. doi: 10.1186/1471-2148-9-40
- Ovenden JR, SALINI J, O'CONNOR S, STREET R (2004) Pronounced genetic population structure in a potentially vagile fish species (*Pristipomoides multidens*, Teleostei; Perciformes; Lutjanidae) from the East Indies triangle. *Mol Ecol* 13:1991–1999. doi: 10.1111/j.1365-294X.2004.02210.x
- Park LK, Moran P (1994) Developments in molecular genetic techniques in fisheries. In: Carvalho GR, Pitcher TJ (eds) *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. Chapman & Hall, London, pp 272–299
- Polovina JJ, Ralston S (1987) *Tropical snappers and groupers : biology and fisheries management*. Westview Press, Oceans Resources and Marine Policy Series, Boulder
- Resende SM, Ferreira BP, Fredou T (2003) A pesca de lutjanídeos no Nordeste do Brasil: histórico das pescarias, características das espécies e relevância para o manejo. *Bol Técn Cient CEPENE* 11:257–270.
- Robert EC (2004) MUSCLE : multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res* 32:1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340
- Rodrigues EB de, Mendes LAT (2005) ARACRUZ CELULOSE S / A ACORDO DE COOPERAÇÃO Nº ARCEL C 2004 / 084 RELATÓRIO DO MACRODIAGNÓSTICO DO POTENCIAL DO ESPÍRITO SANTO PARA AQUICULTURA DE ÁGUAS E MARINHAS Relatório Técnico FPM RT 004



/ 05 Julho / 05 Missão da Fundação Promar : “ Transformar recu. 1–32.

- Rodrigues R, Schneider H, Santos S, et al (2008) Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish ( *Cynoscion acoupa* , Sciaenidae ) from the Northern coast of Brazil. *Genet Mol Biol* 492:487–492. doi: 10.1590/S1415-47572008000300015
- Salles R, Fonteles-Filho AA, Furtado-Neto MAA, et al (2006) Morphometric and Mitochondrial DNA analyses of the caribbean red snapper, *Lutjanus purpureus* ( Teleostei , Lutjanidae ), in Western Atlantic off Northern Brazil. *Bol do Inst Pesca* 32:115–125.
- Santa Brígida EL, Cunha DB, Rego PS, et al (2007) Population analysis of *Scomberomorus cavalla* (Cuvier, 1829) (Perciformes, Scombridae) from the Northern and Northeastern coast of Brazil. *Braz J Biol* 67:919–924. doi: 10.1590/S1519-69842007000500016
- Smithsonian Marine Station (2016) *Lutjanus synagris* (lane snapper).
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123:585–595. doi: PMC1203831
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 2725–2729.
- Vasconcellos A V., Vianna P, Paiva PC, et al (2008) Genetic and morphometric differences between yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*, Lutjanidae) populations of the tropical West Atlantic. *Genet Mol Biol* 31:308–316. doi: 10.1590/S1415-47572008000200026
- Waldman JR (1999) The importance of comparative studies in stock analysis. *Fish Res* 43:237–246. doi: 10.1016/S0165-7836(99)00075-2
- Walters CJ, Martell SJD (2004) *Fisheries Ecology and Management*. Princeton University Press, New Jersey
- Ward RD (2006) The importance of identifying spatial population structure in restocking and stock enhancement programmes. *Fish Res* 80:9–18. doi: 10.1016/j.fishres.2006.03.009
- Zhang J, Cai Z, Huang L (2006) Population genetic structure of crimson snapper *Lutjanus erythropterus* in East Asia, revealed by analysis of the mitochondrial control region. *ICES J Mar Sci* 63:693–704. doi: 10.1016/j.icesjms.2006.01.004

## **Anexo**

### **Anexo I - Protocolo de extração de DNA utilizando solução salina (Bruford et al. 1992)**

Solução de lise adaptada: volume final 50ml

Tris-HCl (1M, pH 8,0): 0,5 ml

EDTA (5 M, pH 8,0): 1,0 ml

ddH<sub>2</sub>O: 48,5 ml

Com uma pinça e lâmina de bisturi devidamente esterilizados a amostra foi cortada até atingir o tamanho mínimo possível. Posteriormente colocada em um microtubo (1,5 ml), devidamente nomeado, e foram adicionados 410µl de buffer de extração, 80 µl de SDS (10%) e 10µl de proteinase K. O microtubo foi deixado no banho-maria à 55°C durante 12 horas. Então centrifugou-se à 13.000 rpm por 5 min e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Foram adicionados 180 µl de NaCl (5M) e inverteu-se a amostra gentilmente 50 vezes até homogeneizar. Centrifugou-se à 13.000 rpm por 5 min e o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo. Adicionou-se 1ml de isopropanol (gelado) e inverteu-se a amostra gentilmente 20 vezes até homogeneizar. Centrifugou-se à 13.000 rpm por 7 min e o sobrenadante foi descartado. Adicionou-se 250 µl etanol (80%) e inverteu-se a amostra gentilmente 50 vezes até homogeneizar. Centrifugou-se à 13.000 rpm por 7 min e toda fase aquosa foi descartada. Deixou-se secar por completo o pellet. Quando o microtubo ficou completamente seco o DNA foi resuspendido em 50ul de tampão TE e armazenado a -4°C.